AKUTE-PHASE-PROTEINE UND ENDOTOXINE IM BLUT VON FRÜH- UND NEUGEBORENEN ALS INDIKATOREN EINES ENTZÜNDLICHEN GESCHEHENS

Peter Raschke

1979

Dissertations- und Fotodruck ANNELIESE SCHUBERT
Corneliusstraße 21 · 8000 München 5 · Telefon 268177

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41535722_0018

Aus der Kinderpoliklinik der Universität München
Direktor: Prof. Dr. H. Spiess

Akute-Phase-Proteine und Endotoxine im Blut von Früh- und Neugeborenen als Indikatoren eines entzündlichen Geschehens.

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
an der Ludwig Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Peter Raschke
aus
München
1979

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter:	Priv.-Doz. Dr. K. KREJCI
Mitberichterstatter:	Prof. Dr. H. SPIESS
Dekan:	Prof. Dr. W. SPANN

Tag der mündlichen Prüfung: 31.7.1979

Ich danke für die Berichterstattung
Herrn Dr. med. habil. K. Krejci.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Dr. med. C.-E. von Pilar, der mir zu jeder Zeit mit tatkräftiger Unterstützung und Ratschlägen hilfreich zur Seite stand.

Weiterhin danke ich Fräulein I. Reichel, Frau T. Schreyer und Herrn W. Hamm für Schreibarbeiten.

I N H A L T

1 Einleitung und Fragestellung
2 Material und Methoden
2.1 Patientengut
2.2 Probenmaterial
2.3 Bestimmung von Akute-Phase-Proteinen
2.3.1 Haptoglobin
2.3.2 Saures α_1-Glykoprotein
2.3.3 CRP
2.4 Endotoxin-Bestimmung

3 Ergebnisse
3.1 Verhalten der Akute-Phase-Proteine
3.1.1 Haptoglobin
3.1.2 Saures α_1-Glykoprotein
3.1.3 CRP
3.2 Endotoxin-Befunde

4 Diskussion
4.1 Vergleich mit anderen Untersuchungen
4.1.1 Akute-Phase-Proteine: Ig, Hp
4.1.2 Endotoxintest
4.2 Bewertung der Bestimmungsmethoden
4.2.1 Akute-Phase-Proteine
4.2.2 Endotoxin-Bestimmung

5 Zusammenfassung

1. Einleitung und Fragestellung

Die derzeit zu beobachtende Senkung der Säuglings- bzw. Neugeborenenmortalität hat ihre Ursache in verstärkter gynäkologischer und perinataler Betreuung, sowohl infolge einer intensiveren Diagnostik als auch verbesserter therapeutischer Möglichkeiten. Trotz großer Anstrengung gelingt es jedoch nicht in allen Fällen, eine Sepsis durch gramnegative Keime (Hospitalsituation) im Rahmen der Intensivmedizin zu vermeiden. Oftmals ist deren Verlauf dann so foudroiant, daß ihre Erkennung und eine entsprechende Therapie zu spät kommen.

Sepsisfälle oder andere Infektionen, die durch Antibiotikagabe oder aus anderen Gründen einen protrahierten Verlauf nehmen und mehr Zeit für Diagnostik lassen, sind oft nicht durch bakteriologische Techniken allein erfaßbar. Andererseits rechtfertigen in Rachen- oder Analabstrichen und Magensaft gefundene, z. T. saprophytäre oder fakultativ pathogene Erreger, wie E. Coli, Klebsiella, Proteus, Serratia, Pseudomonas oder Streptokokken Gruppe B und D nicht eine massive antibiotische Therapie, da diese zu einer Selektion resistenter Keime führt.

Ein Nachweis gramnegativer Keime, mit Hilfe entsprechender Serumantikörper ist frühestens nach 5 - 6 Tagen möglich und scheidet somit zur früheren Erkennung einer Sepsis aus. Ebenso langsam erfolgt der unspezifische Anstieg des gesamten Serum- γ M, der sich allerdings als Hinweis auf eine Embryo- oder Fötopathie bewährt hat. Oligurie, Anurie sowie ein Thrombozytensturz und Leukozytensturz als Symptome für Schock und disseminierte intravasale Gerinnung sind gleichfalls keine Frühsymptome.

Welche Parameter im Blut stehen jetzt noch zur Verfügung, um rechtzeitig die Diagnose einer Allgemeininfektion oder Sepsis im Neugeborenenalter zu stellen oder zu sichern und womöglich den Verlauf der Krankheit und damit die Wirkung der Therapie richtig abzuschätzen?

Es gibt in der Literatur vereinzelt Hinweise über die Nützlichkeit der Konzentrationsbestimmung von Akute-Phase-Proteinen in der Neugeborenenperiode und den folgenden Wochen, so von CRP (14, 17), Haptoglobin (18) und aurem α_1-Glykoprotein (11).

Hierbei läßt sich folgender Sachverhalt nutzen: Bestimmte Proteine fehlen fast völlig im Nabelschnurblut sowie während der ersten Lebenstage; sie steigen aber bei entzündlichen Erkrankungen steil an, so daß sich CRP bekanntlich zeitlebens als Akute-Phase-Protein eignet. Bei Früh- und Neugeborenen mit Infektionen wurden zwar vereinzelt Akute-Phase-Proteine isoliert untersucht, parallel geführte Vergleichsuntersuchungen fehlen jedoch bisher.

Mit Ausnahme einer Studie über CRP in der Neugeborenenperiode aus dem Jahr 1962 mit der linearen Immunodiffusionsmethode (1), die ungenau und unspezifisch ist, sind bisher nur Arbeiten an Säuglingen bis 15 Monaten in der Literatur zu finden. Diese Arbeiten bei Kindern mit Meningitis und Sepsis (17), mit Pyelonephritis (12) bzw. mit verschiedenen Infektionen (19, 20), bedienten sich der empfindlicheren und spezifischen radialen Immunodiffusion.

Statt die Reaktion des Organismus in Form der APP für die Diagnostik zu nützen, kann man versuchen, das infizierende Agens selbst in einer geeigneten Form nachzuweisen.Es ist gelungen, Bakterienantigene im Blut von Kindern mit Sepsis, Meningitis, Pneumonie, Pleuritis, Laryngitis acuta

(mit Hämophilus influenzae) bereits durch relativ grobe Methoden wie die Ouchterlony-Doppeldiffusion oder die Gegenstromelektrophorese nachzuweisen (18). Für unsere Fragestellung ist ein Antigennachweis mit den genannten Methoden jedoch zeitlich und technisch zu aufwendig, zumal die verschiedensten Antikörper zum Antigennachweis zur Verfügung stehen müssen.

Da aber die Gruppe der gramnegativen Keime (E. Coli, Proteus, Klebsiellen, Serratia, Pseudomonas) die häufigsten Sepsiserreger sind, wäre ein Endotoxinnachweis im Blut oder Liquor die ideale Absicherung der Diagnose Sepsis, Bakteriämie, Meningitis. Dies gelingt in der Tat durch einen einzigen Test, den Limulus-Amöbozyten-Lysat-Test (LAL), der mit dem Lipopolysaccharid aller genannten gramnegativen Erreger äußerst empfindlich reagiert (16). Der LAL wurde erfolgreich bei Erwachsenen und Kindern, jedoch noch nicht bei Verdacht auf Neugeborenensepsis eingesetzt (7, 17, 5).

2 Material und Methoden

2.1. Patientengut

Unsere Patienten waren 35 schwerkranke Früh- und Neugeborene der I. Uni-Frauenklinik München, die von November 1975 bis April 1977 in die Kinderpoliklinik verlegt wurden. Die Diagnosen waren in der Reihenfolge der Häufigkeit folgende:

Verdacht auf Infektion aufgrund klinischer Symptomatik	22
gesicherte Infektion (Sepsis)	13

Verdacht auf Infektion bestand bei vorzeitigem Blasensprung (13 Probanden) und massiver Kontamination post partum mit fakulativ pathogenen Keimen. Bakteriologische Untersuchungen von Magensaft-, Nasen-, Ohren-, Rachen-, Nabel- und Analabstrichen wurden unmittelbar post partum und fortlaufend vorgenommen. Die Kontrollgruppe bestand aus: 73 klinisch unauffälligen Früh- und Neugeborenen, darunter 14 mit Kephalhämatom.

2.2 Probenmaterial

118 Serumproben, soweit genug Blut gewonnen werden konnte, wurden bei -22^{o} C eingefroren und steril gehandhabt. In einigen Fällen mit gesicherter

Diagnose konnten wegen zu geringer Probenmengen nur 1 oder 2 Untersuchungen durchgeführt werden.

2.3 Bestimmung von Akute-Phase-Proteinen

2.3.1 Haptoglobin-Bestimmung nach Tarukoski (21)

Prinzip: Haptoglobin schützt Hämoglobin im sauren pH-Bereich (≦ 4) vor dem Verlust von 75 % seiner Peroxidaseaktivität (4,21). Man vergleicht diese Aktivität eines Haptoglobinstandards mit unbekannten Proben bei einem Überschuß an Hämoglobin, so daß Haptoglobin immer ganz mit Hämoglobin abgesättigt ist. Als Peroxidase-Substrat des Haptoglobin-Hämoglobin-Komplexes dient Ethylhydrogenperoxid, als Indikator "o-Dianisidin".

a) Hb-Stammlösung mit Humanblut oder Pferdeblut

Frisch punktiertes Pferdeblut sowie käufliches Pferdeblut diente ohne nachweisbaren Unterschied zur Herstellung einer Stammlösung: Erythrozyten wurden fünfmal mit Kochsalzlösung gewaschen und dann mit 4 Teilen Wasser verdünnt. Nach sorgfältiger Säuerung mit 0,1 mol/l HCl auf pH 5,8 wurden die Stromata der Erythrozyten abzentri-

fugiert, wie bei (21) beschrieben. Nach Neutralisierung mit 0,1 mol/ l NaOH auf pH 7,2 wurde die Konzentration mit dem Eppendorfphotometer bei 546 nm mit der üblichen klinischen Cyan-Methämoglobin-methode gemessen und mit aqua bidest. auf 3 g/ dl Hb verdünnt und in Portionen zu 5 ml bei -22° C aufbewahrt bis zum Gebrauch. Diese Proben erwiesen sich als stabil.

Die Gebrauchslösung: Vor Gebrauch einer Stammlösung wurde ein Teil einer Probe mit physiologischer Kochsalzlösung auf genau 60 mg/dl Hämoglobinkonzentration verdünnt. Zum Vergleich mit dem Pferdeblut prüften wir in Vorversuchen eine Hb-Stammlösung mit Humanblut, die präpariert war nach der genannten Methode, sowie eine folgendermaßen hergestellte Stammlösung:

1 Teil gut gepackte Erys
+ 1,5 Teile aqua bidest.
+ 0,5 Teile Toluol

5 - 10 Minuten wurde die Lösung kräftig geschüttelt und dann bei 4000 Upm 10 Minuten zentrifugiert. Das zwischen Überstand (Toluol + Lipoiden) und Niederschlag (Stromata) befind-

liche Hämolysat wurde vorsichtig abgesaugt und mit NaCl auf die Hb-Konzentration von 60 mg/ dl verdünnt.

b) o-Dianisidinreagens

Ein Acetat-Puffer wurde auf pH 4,10 $\pm$ 0,05 eingestellt. Pufferzusammensetzung: Na-Acetatpuffer 0,1 mol/ l , pH 4,1; EDTA III 0,002 mol/ l. 5,0 mg o-Dianisidin (3,3-Dimethoxybenzidin SERVA) wurden abgewogen und in 5,0 ml Puffer gelöst.

c) Ethyl-hydrogen-peroxid (Ferrosan, Schweden)

Eine 10 - 12 prozentige Lösung wurde vor Gebrauch mit aqua dest. auf 1 : 100 v/v verdünnt.

d) Haptoglobin-Standard

Es wurden drei Standards verglichen:

1. Standard-Human-Serum (Behring, Marburg), für immunologische Plasmaproteinbestimmung K-/Batch-No. A 975 F.
2. Protein-Standard-Plasma (Behring/Marburg) K-/Batch-No. 1175 S
3. Lyophilisiertes Haptoglobin (Behring, Marburg), ein Mischhaptoglobin, gelöst in aqua bidest., Batch-No. 97 P.

Ferner wurden zwei eigene Mischseren hergestellt von 10 gesunden Probanden (3 Frauen, 5 Männern und 2 Kindern) sowie ein äußerst schonend gewonnenes Mischserum von 5 gesunden Erwachsenen (3 Männern und 2 Frauen), bei dem jegliche Hämolyse vermieden wurde. Aus der Abb. 1 sind die schwankenden Werte im Bereich bis 50 mg/ dl ersichtlich, während sich in dem darüberliegenden Bereich eine gute Korrelation ergibt. Das Standardhumanserum (Behring) ergab keine reproduzierbaren Werte.

e) Zur Ansäuerung diente zunächst Eisessig, dann wurde ausschließlich H_3PO_4 o-Phosphorsäure min. 85 % (etwa 1,71) zur Analyse, Merck 2578218, mit Vorteil verwandt.

f) Versuchsanordnung:

Chemische Bestimmung der Haptoglobin-Konzentration: 10 µl Serum oder Standard (Humanserum, Protein-Plasma, Reinhaptoglobin, Mischserum 5, Mischserum 10 Personen, unbekannte Proben) wurde zu 50 µl der Hb-Stammlösung zugegeben, gemischt und für 10 Minuten bei 20° C stehengelassen.

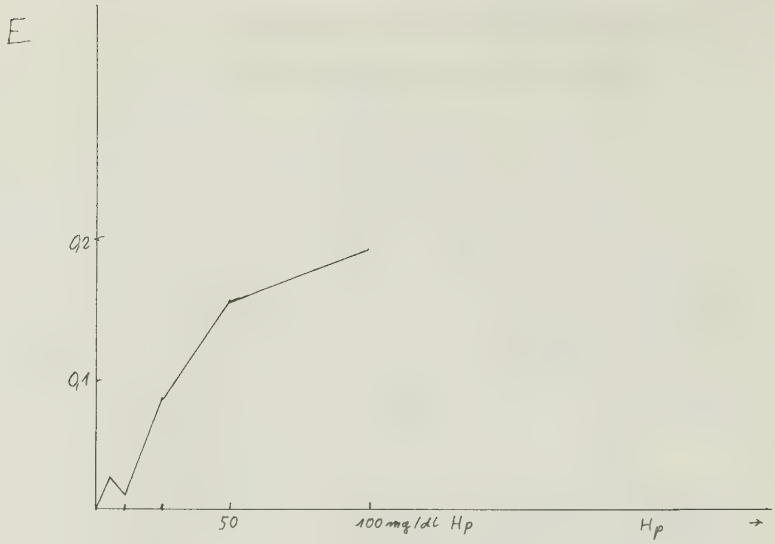


Abb 1 Proteinstandardplasma

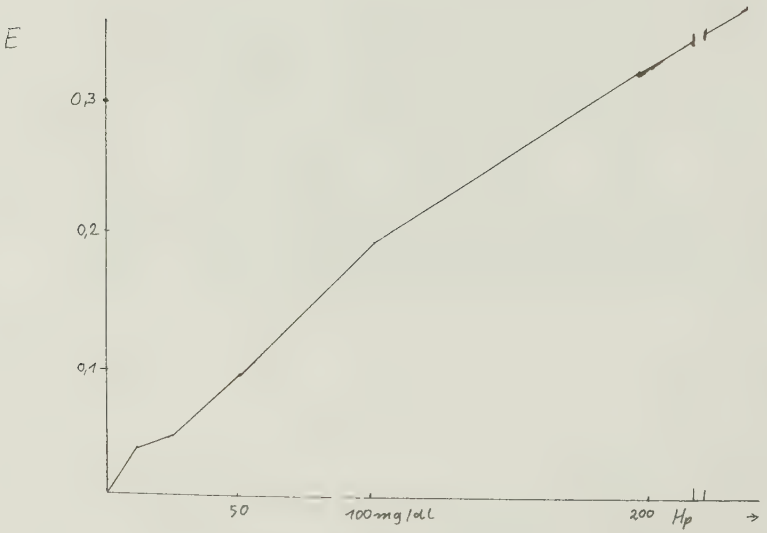


Abb 2 Reinhaptoglobin

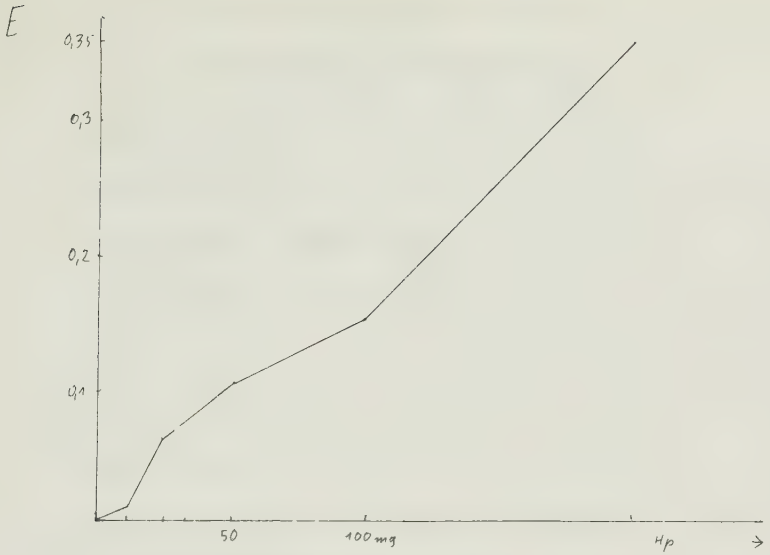


Abb 3 Mischserum 10

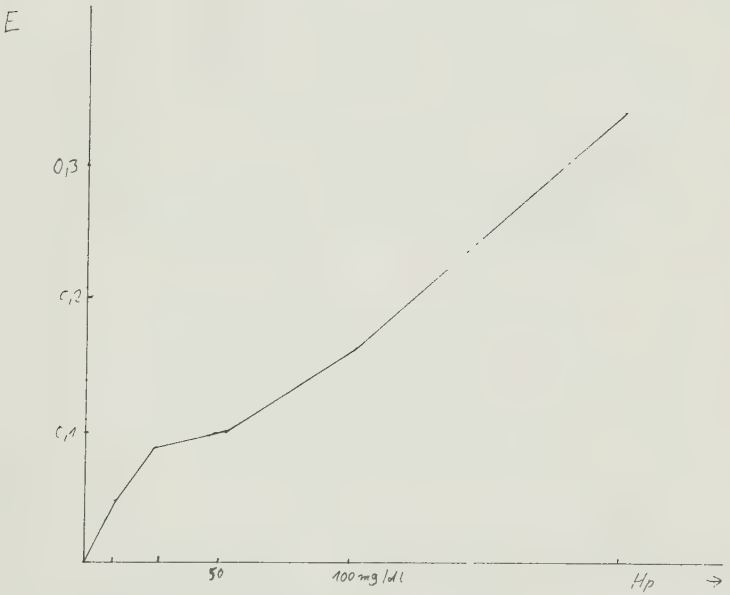


Abb 4 Mischserum 5

20 µl der Mischung wurden zu 5 ml o-Dianisidinreagens gemischt und 15 Minuten bei 20°C belassen. Zugabe von 1 ml Äthylenhydroperoxid und nach einer Stunde bei Zimmertemperatur 3 Tropfen Phosphorsäure. Mischen und sofortiges Ablesen der Absorption bei 405 nm erst mit dem Eppendorfphotometer, später mit dem Beckmannspektrophotometer.

Einige Proben wurden untersucht zur Prüfung der Steigerung der Empfindlichkeit. Dabei wurde der Anteil von Serum auf das 2- und 3-fache erhöht. Um das Hb-Bindungsvermögen anderer Serumproteine, also von Störfaktoren, zu messen, wurden gleiche Hp-Konzentrationen in NaCl 0,9 % sowie in Nabelschnurblut untersucht (Nabelschnurblut ist nahezu Hp-frei).

Neben Vergleichsmessungen bei 405 und 395 nm wurden alle Messungen in Doppelbestimmung vorgenommen.

Verwendete Materialien und Geräte:

sterile Eppendorf-Reaktionsgefäße

Eppendorf-Pipetten und sterile Spitzen

Analysenwaage

Eppendorf-Photometer mit Hg-Filtern 405 nm und 546 nm

Hämoglobincyanid-Reaktionslösung (Merck)

Beckmann-Spektrophotometer Mod. 24, Wellenlänge stufenlos einstellbar

Einmalküvetten aus Polystryrol 10 x 10 x 45 mm, v = 4 ml

Immunologische Methoden zur Hp-Bestimmung

a) Radiale Immunodiffusion

   Reaktionsbereich: 2 - 20 mg/ dl

b) Doppeldiffusion nach Ouchterlony

   Neben der bekannten qualitativen Bestimmung läßt sich durch Anfertigung eines Rosettentests eine semiquantitative Proteinbestimmung leicht ableiten, die der radialen Immunodiffusion teilweise überlegen ist.

2.3.2 Zudem wurde saures α_1-Glykoprotein und CRP

2.3.3 mit der radialen Immunodiffusionsmethode bestimmt.

2.3.4 Endotoxinnachweis mit dem Limulus-Amöbozyten-Lysat (LAL) (BYK-Mallinckrodt)

Für den ET-Nachweis wurden verwendet:

Blutproben derselben kranken Patienten wie zuvor.

ET-Standard der Fa. BYK-Mallinckrodt aus E. Coli.

Pyrogenfreies Heparinplasma für Verdünnungsreihe.

(Heparin: Liquemin ® 25000 G 928092 T von Hoffmann-La-Roche)

25 % Essigsäure

K_2HPO_4: 0,5 g Kaliumhydrogenphosphat gelöst in 0,5 ml aqua bid., leicht erwärmt bis zur Lösung;

Pyrogenfreie Gläser 0,8 x 10 cm (2 h 200° C) für Vorversuche

Mikrotiter-Testplatten System COOK 220-224, steril verpackt, mit 8 x 12 Mulden mit U-Böden.

Kapillaren

Brutschrank (2 h 200° C)

Physiologische Kochsalzlösung und aqua pro injectione

Testbeschreibung LAL:

Prinzip: ET geliert LAL bis zu einer Konzentration von ≥ 0,1 ng/ml Coli-ET innerhalb 1 - 2 h bei 37° C.

Serum- bzw. Plasmavorbereitung zur Entfernung bisher nicht näher bekannter Inhibitoren:
Zu je 100 µl Plasma/Serum wurden 10 µl 25%ige Essigsäure zugegeben und 2 min bei 12.000 Upm zentrifugiert, um Inhibitoren auszufällen (16). Zu 50 µl des Überstandes wurden 10 µl Kaliumhydrogenphosphat zugefügt, um einen pH-Wert im Bereich zwischen 6,5 und 7,5 zu erreichen. Davon werden in die Mulde einer sterilen Mikrotiterplatte 25 µl einpipettiert, mit 25 µl LAL vermischt und für 90' im Brutschrank inkubiert. Bei den Röhrchen wurde das 4-fache Volumen verwandt. Um Verbesserungen zu erreichen, wurden Verdünnungen von Serum bzw. Plasma mit physiologischer Kochsalzlösung vor dem Fällen bzw. vor der Mischung mit dem LAL ausprobiert; außerdem wurden Serumproben 1 : 10 in physiologischer Kochsalzlösung untersucht (Ausverdünnung der Inhibitoren). Nach (16) sollen die Resultate dem Chloroformextrakt gleich sein.
Standard: Lyophilisiertes E. Coli-Endotoxin wurde in aqua pro inj. gelöst und verdünnt bis zur Konzentration von 0,1 ng/ml ET.

Kontrollen: LAL mit physiologischer Kochsalzlösung, mit Essigsäure und KH_2PO_4 sowie mit aqua pro inj..

Ablesung: Durch Neigen der Platten oder Röhrchen um 90° erkennt man deutlich die gelierten, positiven Proben: die schwach positiven zeigen mehr oder weniger starke Konsistenzvermehrung gegenüber Leerkontrollen aus Plasma, Serum oder physiologischer Kochsalzlösung.

3 Ergebnisse

Tabelle 1

Proband	Haptoglobin in mg/100 ml					
	chem.	immun.	γM	CRP	Orosom.	Diagnose
1 Aig	34	68	36	4	46	Verdacht auf Infektion
2 Ant	9	38	39	0	45	Bradykardien
3 Bel	0	28	82	8	62	Kephalhämatom, verlegt
4 Ber	133	73	65	6	61	Kephalhämatom, verlegt
5 Bus	25	114	12	0	30	Kephalhämatom, verlegt
6 Cil	20	1	33	1	39	Verdacht auf Infektion
7 Dil	45	110	95	12	67	Sepsis
8 Ebe	16	1	28	0	39	Hydrocele, gesund
9 Eis	68	200	99	10	58	Verdacht auf Infektion
10 Ert	25	12	31	0	48	Verdacht auf Infektion
11 Fel	0	24	32	2	43	Sepsis, < 1500 g
12 Ger	0	71	35	1	38	Sectio, gesund
13 Göt	76	200	91	13	47	Sepsis
14 Gro	65	44	22	0	30	Verdacht auf Infektion
15 Gün	75	137	65	4	60	Verdacht auf Infektion
16 Gyr	74	260	94	8	51	Sepsis
17 Ham	1	41				Verdacht auf Infektion
18 Hei	59	62	59	3		Sepsis, < 1500 g
19 Hön		55			50	Verdacht auf Infektion

Tabelle 1 (Fortsetzung)

Proband	Haptoglobin in mg/100 ml					
	chem.	immun.	γ M	CRP	Orosom.	Diagnose
20 Hon	59	47			63	Verdacht auf Infektion
21 Kal	89	170	77	8	45	Sepsis
22 Kas	49	140	83	9	74	Sepsis
23 Kes	0	35	22	0	29	Pylorusstenose
24 Kle		>10	44	0	26	Verdacht auf pränat. Infektion
25 Kol	16	0	77	)	51	Kephalhämatom (1500 g)
26 Kop[x]	236	114	65	5	65	Sepsis
27 Kri	9	230	83	7	58	eutrophes FG
28 Lin	30	56	21	0	52	Verdacht auf Infektion
29 Mad	20	8	18	1	45	Verdacht auf Infektion
30 Mak	1	36	67	5	59	Verdacht auf Infektion
31 Mes[x]	160					Kephalhämatom
32 Mon	0	63	79	8	50	Verdacht auf Infektion
33 Osw	18	59	51	7	57	Verdacht auf Infektion
34 Özd	25	59	62	7	48	Unreif (Exitus 7 d post) V. a. Inf.
35 Reg	0	63	22	0	50	Verdacht auf Infektion
36 Rou[x]	148	51	49	2	37	Kephalhämatom, verlegt
37 Rey	9	16	33	0	28	Hydrocephalus
38 Sag	36	12	22	0	67	Verdacht auf Infektion
39 Sei	nur ET-Test					Sepsis

x = Proben mit Hämolyse

Tabelle 1 (Fortsetzung)

Proband	Haptoglobin in mg/100 ml					
	chem.	immun.	γ M	CRP	Orosom.	Diagnose
40 Tir	248	55	48	4	31	Rh.-inkomp., Sepsis
41 Tis	54	58	29	0	21	Sepsis
42 Töp	0	22	32	1	23	Verdacht auf Infektion
43 Yil	51	68	65	6	40	Sepsis
NS-blut						
44 Aig	13	45	31	0		Verdacht auf Infektion
45 Bau	0	80	59	3	43	Verdacht auf Infektion
46 Cam	6	12	48	6	59	Verdacht auf Infektion
47 Gyr	1	56	62	7		Sepsis
48 Hei	38	52	66	2		Sepsis
49 Hon	24	34	59	8		Verdacht auf Infektion
50 Lau	8	1	33	0	37	Verdacht auf Infektion
51 Leh	16	22	66	0	39	Verdacht auf Infektion
52 Nod	16	48	76	7	60	Verdacht auf Infektion
53 Peu	62	38	29	0	29	Rh.-inkomp.
54 Wei	61	260	lol	11	63	Streptokokken-Sepsis
55 Zei	26	50	59	7	42	Sepsis
56 Zie	16	36	29	0	20	Mongolismus

x = Proben mit Hämolyse

Tabelle 2

	S./I.	V.a.I.	K.H.verl.	"n"	"n"
Probanden	n = 13	n = 22	n = 5	n = 48	n = 25
Hp	13 ⊕	13 ⊕	4 ⊕		25 ⊕
	0 ⊖	9 ⊖	1 ⊖	48 ⊖	
CRP	12 ⊕	14 ⊕	4 ⊕	1 ⊕	5 ⊕
	1 ⊖	8 ⊖	1 ⊖	47 ⊖	20 ⊖
γ^M	11 ⊕	13 ⊕			
	2 ⊖	9 ⊖			

Wie aus Tabelle 2 ersichtlich, war bei den 13 Fällen mit nachgewiesener Infektion oder Sepsis (S./I.) Haptoglobin 13 mal, also in jedem Fall,

γ^M 11 mal

CRP 12 mal erhöht bzw. positiv.

Bei "Verdacht auf Infektion" (V.a.I.) war von 22 Fällen

Haptoglobin 13 mal

γ^M 13 mal

CRP 14 mal erhöht.

Bei normalen Früh- und Neugeborenen wurde von uns eine Teilung vorgenommen, die Hp-konzentrationen von weniger

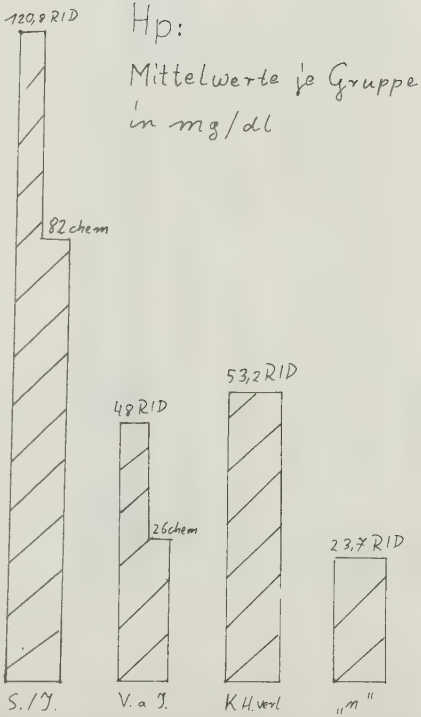
bzw. mehr als 22 mg/ dl voneinander unterschied.

Bei 48 Probanden hatte Haptoglobin einen Durchschnittswert von 5,82 mg/ dl, in der anderen Gruppe bei 25 Probanden lag der Durchschnittswert bei 58 mg/ dl. In dieser Gruppe war ein Fall, der in die Kinderklinik verlegt (Kri) wurde, bei dem sämtliche Parameter kräftig erhöht waren. Vermutlich handelt es sich um eine unerkannte Infektion. Das war auch bei 4 von 5 Kindern mit einem Kephalhämatom der Fall, die wegen schlechten Zustandes verlegt werden mußten (K.H.verl.).

Hohe Werte wurden bei einer Kontrollgruppe gesunder, nicht verlegter Kinder mit Kephalhämatom nicht gefunden.

Abb. 5 und 6 zeigen die durchschnittlichen Werte in mg/ dl an Haptoglobin (Hp) bzw. C-reaktivem Protein (CRP) jeweils aller Probanden einer Gruppe bei Sepsis und sicherer Infektion (abgekürzt S./I.), bei Verdacht auf Infektion (V.a.I.), bei verlegten Kephalhämatomkindern (K.H.verl.) sowie bei "normalen" Früh- und Neugeborenen ("n").

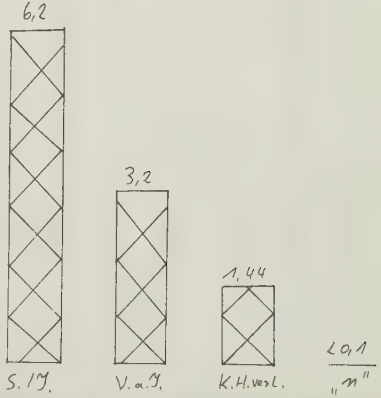
Abb 5



Hp:
Mittelwerte je Gruppe
in mg/dl

Abb 6

CRP:
Mittelwerte je Gruppe
in mg/dl



Alle Versuche wurden in Doppelbestimmung vorgenommen, ohne oder mit sehr geringer Streubreite.

Ergebnisse des Limulus-Amäbozyten-Lysat-Testes

Vorversuche

belle 3

rum und NaCl	(1+9) + 0,5 ng ET/ml	Endkonzentration (EK)			fest geliert		+++
" "	(1+9) + 0,1 ng ET/ml	Ek			geliert		++
rum mit 0,5 ng	ET/ml	EK			negativ		ø
" 1 ng	"	"	schwach sichtbar		geliert		+
" 2 ng	"	"	"	"	"		+
" 5 ng	"						++
1 " 0,1 ng	"	"			fest geliert		+++
" 0,5 ng	"	"			"	"	+++
" 1 ng	"	"			"	"	+++
ohne ET					negativ		ø

Positivkontrollen LAL und NaCl mit Endotoxin (ET) von 0,1, 0,5 und 1 ng ET/ ml erbrachten das erwartete positive Ergebnis (Tabelle 3).

Leerkontrolle(nur NaCl): negativ

Bei allen folgenden Ergebnissen ist die Säurefällung bei der Bearbeitung von Serum oder Plasma angewandt worden. Der folgende Versuch dient der Fragestellung, ob ET bei der Gewinnung von Serum oder Plasma an Fibrin, Erythrozyten oder Leukozyten verlorengeht.

Tabelle 4

Endotoxinzusatz (ET) zu Vollblut mit Heparinzusatz zur Gewinnung von Plasma durch anschließendes Zentrifugieren (Tabelle 4, 1-3). Der gleiche Versuch ohne Heparinzusatz zur Gewinnung von Serum (Tabelle 4, 4-6).

EK = Endkonzentration, SF = Säurefällung

					nach 1 1/2 h	nach 18 h
1)	Plasma + 10	ng ET/ml	EK,	SF,	steif	steif
2)	" + 2,5	ng "	" ,	" ,	"	"
3)	" + 1	ng "	" ,	" ,	"	"
4)	Serum + 10	ng "	" ,	" ,	schwach geliert	geliert
5)	" + 2,5	ng "	" ,	" ,	" "	"
6)	" + 1	ng "	" ,	" ,	" "	"

Tabelle 5

ET-Zusatz zu Plasma, Serum und NaCl

				nach 1 1/2 h	nach 18 h
7)	Plasma	+ 10	ng ET/ml EK, SF,	fest geliert	geliert
8)	"	+ 2,5	ng " " , " ,	schwach "	nahezu geliert
9)	"	+ 1	ng " " , " ,	" "	" "
0)	Serum	+ 10	ng " " , " ,	fest "	fest "
1)	"	+ 2,5	ng " " , " ,	" "	" "
2)	"	+ 1	ng " " , " ,	" "	" "
3)	Serum	+ NaCl (1+9)	+ 10 ng ET/ml Ek, SF,	sehr schwach geliert	gleich
4)	"	"	+ 20 ng " ", ",	"	gleich
5)	"	"	+ 30 ng " ", ",	schwach geliert	gleich
6)	NaCl	+ 10	ng ET/ml EK	fest geliert	fest geliert
7)	"	+ 2,5	ng " "	" "	" "
8)	"	+ 1	ng " "	" "	" "
9)	"	+ 0,1	ng " "	" "	" "

0 - 22) ET-Zusatz zu Plasma, Serum und NaCl ohne LAL ergab keine Gelbildung.

Anmerkung:

Während NaCl mit ET und LAL reproduzierbare Ergebnisse lieferte, scheinen verschiedene Seren und Plasmen unterschiedlich die Reaktion von ET mit LAL zu beeinflussen.

Nach Austrocknung ergab der Bodensatz ohne ET eine feinkörnige Form; je mehr ET, desto stärkere Einrißstrukturen entstanden im Bodensatz.

Tabelle 6

Serum von Mischblut (3 Frauen, 3 Männer, 2 Kinder)

		nach 1 1/2 h	nach 18 h
1)	Serum ohne ET, SF	ganz leicht geliert	leicht geliert
2)	" mit 10 ng ET/ml, EK, SF,	stark "	fest "
3)	" " 1 ng " " , " ,	schwach "	schwach "
4)	" " 0,5 ng " " , " ,	" "	" "
5)	" " 0,1 ng " " . " ,	negativ	negativ

Tabelle 7

Verdünnung von Serum mit NaCl

			nach 1 1/2 h	nach 18 h
1)	Serum	+ 1 ng ET/ml EK, SF,	geliert	schwach gelier
2)	" /NaCl	(1+1) + 0,5 ng " " , " ,	leicht "	steif
3)	" / "	(1+3) + 0,25 ng " " , " ,	negativ	negativ
4)	" / "	(1+1) + 1 ng " " , " ,	fest	steif
5)	" / "	(1+4) + 0,5 ng " " , " ,	geliert	hängt durch
6)	" / "	(1+6) + 0,3 ng " " , " ,	schwach geliert	" "

Negativkontrollen:

7) Serum		ohne ET	mit LAL	negativ
8) Serum/NaCl	(1+1)	ohne ET	ohne "	"
9) " / "	(1+1)	"	mit "	"

Die Verdünnung des säuregefällten und neutralisierten Serums 1+1 mit NaCl verspricht die empfindlichste Methode zu sein.

Tabelle 8

Ergebnisse mit Patientenserum

von 6 Patienten mit Sepsis und 6 Patienten mit Verdacht auf Infektion in der Verdünnung Serum/NaCl 1+1 V/V nach Säurefällung:

1) Göt	flüssig
2) Gün	"
3) Kop	"
4) Leh	"
5) Lin	"
6) Mad	leicht geliert
7) Mak	flüssig
8) Osw	"
9) Reg	leicht geliert
10) Yil	flüssig
11) Hei	leicht geliert
12) Sei	flüssig

Bei 12 Serumproben, die nach Anamnese und Art der Gewinnung für den LAL geeignet waren, fielen 3 schwach positiv aus. Eine positive Blutkultur fand sich bei Reg (Nr. 9) und Hei (Nr. 11).

4 Diskussion

4.1 Vergleich mit anderen Untersuchungen

4.1.1 Akute-Phase-Proteine

Aus der Literatur wurden Darstellungen entnommen, daß Haptoglobin (5,8), CRP (1, 12, 14, 19, 20) und saures α_1-Glykoprotein (Orosomucoid) (11) geeignet sind, Hinweise auf entzündliche oder septische Krankheiten im Neugeborenenalter zu liefern. Besonders deshalb, da diese Proteine während der ersten Lebenstage nur in Spuren oder überhaupt nicht mit einfachen immunologischen Methoden nachweisbar sind - ähnlich γA und γM -, jedoch vom Körper des Neugeborenen innerhalb Stunden bis Tagen (21) in einer Menge produziert werden können, die signifikant über dem Normbereich liegen.

γA, γM und Haptoglobin sind nur in den ersten Lebenstagen bei Infektionen im Sinne von Entzündungsparametern diagnostisch verwertbar, da anschließend die Streubreiten beim Anstieg zu groß werden. Dagegen eignet sich bekanntlich das CRP zeitlebens als Indikator für eine Entzündungsreaktion, ähnlich der BKS. Die BKS ist bei Neugeborenen fraglich/ schwer zu bewerten, da ein

hoher HK, niedriges Fibrinogen und oftmals niedriges γG (physiologischer Abfall) die BKS verzögern. Angaben über hohe Haptoglobinkonzentrationen bei Neugeborenen in der Literatur (9, 10, 22) bis zu 230 mg/dl veranlaßten uns, nach ähnlich hohen Ergebnissen bei Neugeborenen mit Verdacht auf Infektion zu suchen.

γM wurde bei Kindern mit Kephalhämatom und normalen Kindern nur bei einem Teil gemessen, da die Abnahme des Blutes in der Regel zwischen 6. und 8. Tag erfolgte, wenn bereits physiologisch ein Anstieg auf ≧ 40 mg/dl stattgefunden hat. Aus diesem Grunde erscheinen in Abb. 1 und unter KH die Werte von γM nicht mehr. Kinder mit Kephalhämatom ohne Zeichen einer Entzündung unterscheiden sich nicht von normalen Neugeborenen. Die Vermutung, die verschiedene Darmflora nach Flaschen- bzw. Brusternährung könnte Hp-änderungen (bei Flaschenernährung erhöht) verursachen, konnte bei einer Gruppe von je 10 reinen Brust- bzw. Flaschenkindern nicht bestätigt werden. Die Problematik des Haptoglobinnachweises mit der chemischen Methode wird schon von Salmi (18)

erwähnt mit folgendem Satz: "Das Hb-Bindungsvermögen kann durch bestimmte Stoffe, die sich im Serum befinden können, beeinträchtigt bzw. sogar aufgehoben werden". Widersprüchliche Aussagen fanden sich auch beim Studium der Literatur. So steht bei Salmi (18) Seite 12: "Hämoglobin verliert seine eigene Peroxidaseaktivität in saurer Umgebung". Dagegen Tarukoski (21) Seite 81: "Der Überschuß von Hämoglobin ist transformiert zu einem Gemisch mit etwa 1/4 seiner Originalaktivität, wenn die Probe 15 Min. in saurem Reagens, das o-Dianisidin enthält, steht". Ein zu großer Überschuß an Hb, besonders bei niedrigem Hp-Gehalt der Probe, sollte also eine falsch hohe Hp-Konzentration vortäuschen bzw. eine Abfälschung der Standardkurve in den niederen Bereichen, da selbst im sauren Milieu Hb noch 1/4 seiner Peroxidaseaktivität behält.

4.2. Bewertung der Bestimmungsmethoden

Technische Probleme, Fehlerquellen, Standardversuche, Gewinnung der Proben

4.2.1 Bei den Vorversuchen mußten wir feststellen, daß Ansäuerung der Hp-Hb-Proben mit Eisessig keine reproduzierbare Extinktion und pH-Werte ergab im Gegensatz zu 3 Tropfen H_3PO_4, die nicht nur reproduzierbare Werte, sondern auch einen stabilen pH-Wert brachten.

Einmal-Küvetten lagern Dianisidin an und verfärben sich für das Auge sichtbar nach 3-4maliger Verwendung und dürfen daher nur einmal gebraucht werden. Dabei geben sie reproduzierbare Werte.

Beim Dianisidin muß streng auf eine gesättigte Lösung dieser schwerlöslichen Substanz geachtet werden, um stabile Werte zu erreichen.

Wie in der Literatur angegeben (4), zeigte Pferdehämoglobin eine erheblich höhere Peroxidaseaktivität als menschliches Hämoglobin und wurde dann auch für den Hauptversuch verwandt, im Gegensatz zu anderen Autoren, die humanes Hb als geeignet ansehen (21).

Als Vorteile der chemischen Methode müssen genannt

werden die Unabhängigkeit vom genetischen Typ des Hp und der geringe Zeitaufwand von 2 - 4 h. Bei unseren Standardversuchen mit Reinhaptoglobin (Behring), frischem Serum von zehn bzw. fünf gesunden Probanden sowie Proteinstandardplasma (Behring) sind die gemessenen unteren Werte nicht reproduzierbar. Erst Werte ab 50 mg/dl sind als Ergebnisse quantitativ aussagefähig. Aus den graphischen Darstellungen (Abb. 1-4) ist zu ersehen, daß die unteren Werte keine einheitliche Reaktion zeigen. Eine Erhöhung des Serumanteils von 10 auf 20 bzw 30 µl ergab keine Verbesserung, da Störfaktoren, die noch nicht genau bekannt sind (Albumin, Hemopexin?) eine erhöhte Peroxidasetätigkeit vortäuschen. Lediglich die Kurve mit Reinhaptoglobin (Abb. 5) war bis auf den Bereich unter 30 mg/dl geradlinig, während Seren- bzw. Plasmakurven auch in den Werten darüber erhebliche Schwankungen aufwiesen. Werte oberhalb 200 mg/dl Hp sind bei Neugeborenen sehr unwahrscheinlich und haben keine Aussagekraft. Sie wurden von uns nur nach Blutaustausch gemessen.

Die Methode nach Tarukoski ist nach unseren Ergebnissen reproduzierbar im Bereich von 50 - 300 mg/dl Hb-Bindungskapazität, während der Bereich von 20 - 50 mg/dl in der ersten Lebenswoche diagnostisch wertvoll ist.
Eine wichtige Fehlerquelle ist die Gewinnung von Blutproben. Von ursprünglich etwa 70 Blutproben waren einige für das Auge sichtbar hämolytisch, ein häufiger Befund bei Seren von Neugeborenenblut, das durch Fersenstich gewonnen ("gemolken") wird. Die Gewinnung von Blutproben vor dem Blutaustausch zur Behandlung von Sepsis oder Hyperbilirubinämie war aus technischen Gründen nicht immer möglich, so daß die Fallzahl an tatsächlich auswertbarem Material geringer ist, als es der Patientenzahl entspricht.

Zustände mit erniedrigter Serumhaptoglobinkonzentration durch erhöhten Verbrauch bzw. verminderter Synthese, Zustände mit erhöhter Serumhaptoglobinkonzentration und den dabei bestehenden engen Beziehungen zwischen Serumhaptoglobinkonzentration und der Höhe von BKS, Fibrinogen und saurem α_1- Glykoproteinspiegel hat Braun (3) beschrieben. Manche Frühgeborene und kranke Neugeborene sind unfähig,

die Hp-Produktion so stark zu steigern, daß der Verbrauch durch Haemolyse (Blutmauserung) mehr als ausgeglichen wird. Salmi (18, S. 11) schreibt, daß einem "Abfall der Hp-Konzentration, der einer Hämolyse folgt, keine beschleunigte Synthese folgt", obwohl "wenn eine ausgereifte Synthese vorhanden ist, die Rate 75 mal so hoch wie normal sein kann". In Entzündungsprozessen wurde eine Substanz gefunden, die die Produktion von Hp beschleunigt. Es ist die sogenannte haptoglobinopoietische Substanz, deren genaue Charakterisierung noch aussteht (18 S. 11).

Die Differenzierung des genetischen Typs des Haptoglobins zur Bestimmung des jeweiligen Umrechnungsfaktors ist das Hauptproblem bei der radialen Immunodiffusion, wie bei (4) beschrieben. Hierfür ist zusätzlich eine Elektrophorese nötig. Die Umrechnungsfaktoren sind:

beim Typ "1 - 1" x 0,6
" " "1 - 2" x 1,3
" " "2 - 2" x 1,5 (5).

Als weiterer Nachteil spielt die Zeit (Minimum: 24 h) bei der radialen Immunodiffusion eine große Rolle.

Während für γM der langsame Anstieg und die langsame Auswertung gilt, ist der γM Latex-Test wie auch der CRP-Latex-Test vorteilhaft schnell. Als Vorteil ist der geringe Aufwand anzusehen und die sofort und in jedem Labor mögliche Durchführbarkeit.

Der Ouchterlony-Rosettentest braucht 16 h bis zur Auswertung, während die Elektroimmunodiffusion (auch für saures α_1-Glykoprotein) als sehr aufwendig betrachtet werden muß. Die chemische Methode korreliert in etwa der immunologischen Methode (4), während der "Ouchterlony" als Rosettentest semiquantitativ zur Unterscheidung von viel, wenig oder keinem Protein dient.
Für das Neugeborenenalter gilt, daß die Bildung "Akuter-Phase-Proteine" wie Haptoglobin, die vorwiegend aus der Leber stammen, infolge ungenügender Funktion durch Frühgeburt und Mehrbelastung geringer sein kann als bei reifen und gesunden Neugeborenen (22).
Dadurch ist der kurzfristige Anstieg durch Sepsis, Pneumonie oder Meningitis bei Frühgeborenen im Verlauf der ersten Lebenstage unter Umständen nicht immer signifikant. Die Ergebnisse von Salmi (18) müssen also nach unserem Ergebnis skeptisch betrachtet werden. Als alleiniges Akute-Phase-Protein

reicht es nicht zur sicheren Erkennung einer entzündlichen Erkrankung.

4.2.2 Endotoxinbestimmung mit dem Limulus-Amöbozyten-Lysat-test

Trotz anfänglichem Optimismus, bedingt durch eindrucksvolle quantitative Angaben über Endotoxingehalt im Blut (6, 15, 16) - mit Hilfe des LAL wurden 1-500 ng/ml bestimmt - gibt es neuerdings kritischere Stellungnahmen (7) aufgrund experimenteller Befunde mit 7 verschiedenen Limulus-Amöbozyten-Lysat (LAL)-Präparationen. In dieser Untersuchung (7) schneidet der uns zur Verfügung stehende Test relativ schlecht ab. Immerhin konnten wir im Kochsalzmilieu regelmäßig bis zu 0,1 ng/ml, im Blut 1 ng/ml Endotoxin nachweisen. Andererseits wurden aber auch mit empfindlichen LAL-chargen bei positiver Blutkultur mit gramnegativen Bakterien negative Ergebnisse verzeichnet. Es ist nicht ausgeschlossen, daß bei 1 - 2 lebensfähigen Bakterien pro ml Blut mit positiver Blutkultur der LAL nicht anspricht, während Blutproben mit zahlreichen abgetöteten Bakterien oder anderweitig freigesetztem Endotoxin zwar zu negativen Blutkulturen

führen (Blutbakterizidie, Antibiotica), im LAL-Test jedoch positiv reagieren. Das klinische Bild der Sepsis ist nicht mit der gramnegativen Bakteriämie identisch. Die positive Blutkultur mit gramnegativen Keimen muß nicht parallel gehen mit Endotoxinämie.

Auch die Möglichkeit falsch positiver Tests wird diskutiert (7), ohne daß bisher klar ist, welche Blutbestandteile den LAL zur Gelierung bringen. Eine Korrelation zwischen Endotoxinkonzentration und positivem Test ist gegeben, jedoch liegen die Endotoxinkonzentrationen mit positivem LAL in vitro im Plasma bzw. Serum über 1 ng/ml. Auffällig waren unsere positiven Ergebnisse mit 1 ng/ml Endotoxin in Plasma bzw. Serum und NaCl im Verhältnis 1 + 1. Durch den Zusatz von NaCl ist eine Verminderung von Störfaktoren von seiten des Blutes als sicher anzunehmen, da in reinem 0,9 % NaCl Endotoxinkonzentrationen bis 0,1 ng eindeutig positive Gelierung erbrachten.

Nach (7) und auch nach eigenen Ergebnissen sind außer Endotoxin auch andere Faktoren an der Bildung falsch-positiver Ergebnisse beteiligt.

Neben der Serumverdünnung mit NaCl stellt die Plasma-Protein-Inhibitoren-Ausfällung die Möglichkeit dar, den Test für Endotoxin im Plasma möglich und empfindlicher zu machen.
Der meist zur Inhibitorenfällung benutzte Chloroformextrakt wurde von uns einmal durchgeführt. Für den Rest war der nach Levin gewonnene "cloudy layer" als trübe Schicht zwischen Chloroform und Plasma wegen seiner zähen Konsistenz nicht pipettierbar, wodurch eine quantitative Rückrechnung pro ml Blut unmöglich war. Andere Autoren (7) verwendeten den "upper layer", während wiederum andere Autoren (16) die Fällung mit der Chloroformmethode als beschwerlich und unzuverlässig bezeichnen und dafür die auch in dieser Arbeit zur Anwendung gekommene Säurefällung anbieten mit dem Hinweis: "Die exakte Beschaffenheit der Inhibitoren im Humanplasma ist, wie bei anderen Species, zur Zeit in Untersuchung."
Nach (16) wurde 1-500 ng Endotoxin/ ml Plasma gefunden. Auch in unserer Arbeit konnte 1 ng Endotoxin/ ml Plasma manchmal nachgewiesen werden, manchmal nicht, wobei die Gelbildung bei 0,001 µg Endotoxin im Plasma deutlich sichtbar der gleichen

Endkonzentration Endotoxin in Plasma/NaCl 1 + 1 unterlegen war.

Die LAL-Umstellung auf die Mikromethode ist finanziell vorteilhafter und zeigt im Sediment nach 12 h Brutschrank und anschließender Trocknung deutlich unterscheidbare Rückstände auf dem Boden bei positiven und schwach positiven im Gegensatz zu negativen Proben. Diese zusätzliche Ablesung kann u.U. den LAL verbessern, ebenso wie die NaCl-Verdünnung nach der "Inhibitorfällung".

5 Zusammenfassung

Es wurde geprüft, ob die gleichzeitige Bestimmung dreier "Akute-Phase-Proteine", des γM und eines Endotoxinnachweises Vorteile bietet zur Erkennung einer frischen, bzw. zur Verlaufskontrolle einer früheren Infektion bei Früh- und Neugeborenen, ob bereits sehr unreife, septische Frühgeborene "Akute-Phase-Proteine" bilden und schließlich, ob Störungen wie Geburtstraumen einen gleichen Effekt auf die "Akute-Phase-Proteine" haben wie Infektionen.

Der direkte Endotoxinnachweis mit Hilfe des Limulus-Amöbozyten-Lysat-testes hat sich bisher für die Diagnostik bakterieller Infektionen als zu wenig zuverlässig erwiesen.

Nur extreme Erhöhungen von γM, Hp und Orosomucoid können jenseits der ersten Woche bis Ende der zweiten Woche als diagnostische Hilfsmittel einer abgelaufenen entzündlichen Erkrankung verwandt werden.

CRP kann schon bei Frühgeborenen unter 1000 g Körpergewicht wie beim Erwachsenen rasch gebildet werden und wegen seines prompten Abfalls bei Heilung zur Verlaufskontrolle dienen. Da Blut-

transfusionen die CRP-Reaktion im Gegensatz zu den übrigen "Akute-Phase-Proteinen" nicht beeinflussen, sollte wegen der Möglichkeit eines Latexschnell-testes der CRP-Nachweis in das Repertoire der Früh- und Neugeborenenüberwachung aufgenommen werden.

Klinisches Bild, γM, Blutkultur, Blutbild, Akute-Phase-Proteine, Bakterienantigene im Blut, Antikörper gegen ursächliche Organismen: Keine einzige Methode ist allein signifikant für die Diagnosestellung "Sepsis", mehrere Parameter sind nötig, um früher und sicherer Infektionen bei Neugeborenen zu erkennen.

Literaturverzeichnis

(1) Andersen H.J., Hanson, L.-Å. & Nilsson, L.-Å.: The presence of C-reactive protein in neonatal period correlated to clinical conditions. Acta Path. Microbiol. Scand. 54 (1962) 349 (Abstract)

(2) Braun H.J.: Eigenschaften und Funktionen des menschlichen Haptoglobins. Blut 24 (1972) 1-5

(3) Braun H.J.: Die klinische Bedeutung des Haptoglobins. Blut 24 (1972) 73-77

(4) Braun H.J. u. Aly F.W.: Die quantitative Haptoglobinbestimmung mit der Peroxydaseaktivierungsmethode und der radialen Immunodiffusion. Ein Methodenvergleich. Z. klin. chem. u. klin. Biochem. 9 (1971) 508-515

(5) Braun H.J. und Aly F. W.: Problems in the quantitativ estimation of human serum haptoglobin by single radial immunodiffusion. Clin. Chim. Acta 26 (1969) 588-590

(6) Caridis D. T., Reinhold R., Woodruff P. u. Fine J.: Endotoxaemia In Man. The Lancet 24 (1972) 1381-1386

(7) Elin R.J., Robinson R., Levine A. u. Wolff S.: Lack of Clinical Usefulness of the Limulus Test in the Diagnosis of Endotoxemia. Engl. J. Med. 293 (1975) 521-524

(8) Elson Edward C., M.D.: Quantitative Determination of Serum Haptoglobin. A Simple and Rapid Method. Am. J. Clin. Pathol. 62 (1974) 655-663

(9) Geiger H. u. Hoffman, P.: Quantitative immunologische Bestimmung von 16 verschiedenen Serumproteinen bei 260 normalen, 0-15 Jahre alten Kindern. Z. Kinderheilkd. 109 (1970) 22-40

(10) Gitlin D. u. Biasucci, A.: Development γG, γA, γM, ß1C/ß1A, C'1 Esterase Inhibitor, Ceruloplasmin, Transferrin, Hemopexin, Haptoglobin, Fibrinogen, Plasminogen, α_1-Antitrypsin, Orosomucoid, ß-Lipoprotein, α_2-Makroglobulin, and Prealbumin in the Human Conceptus. J. Clin. Invest. 48 (1969) 1433-1447

(11) Gotoh H., Ishikawa N., Shiori T., Hattori Y., Nonura H. and Ogawa J.: Diagnostic significance of serum, Orosomucoid level in bacterial infections during neonatal period. Acta Paed. Scand. 62 (1973) 629-632

(12) Jodal Ulf and Hanson L.-Å.: Sequential determination of C-reactive protein in acute childhood Pyelonephritis
Acta Paediatr. Scand. 65 (1976) 319-322

(13) Levin J.: Endotoxin and Endotoxemia N. Engl. J. Med. 288 (1973) 1297-1298

(14) Nilsson L.Å.: Vergleich über Präzipitationsmethoden zum Nachweis von CRP. Acta Path. Mikrobiol. Scand. 73 (1968) 129

(15) Oberle M., Graham G. and Levin J.: Detection of endotoxemia with the Limulus test: Preliminary studies in severely malnourished children. Tropical Pediatrics 85 No. 4 (1974) 570-753

(16) Reinhold R. u. Fine, J.: A Technique for Quantitativ Measurement of Endotoxin in Human Plasma. Proc. Soc. Exp. Biol. 137 (1971) 334-340

(17) Sabel K.-G. u. Hanson, L.Å.: The Clinical Usefulness of C-Reactive Protein (CRP) Determinations in Bacterial Meningitis and Septicemia in Infancy. Acta Paediatr. Scand. 63 (1974) 381-388

(18) Salmi T.: Haptoglobin levels in the Plasma of newborn infants. Acta Paediatr. Scand., Suppl. 241 (1973) 1-55

(19) Saxstad J., Nilsson L.-Å. and L.-Å. Hanson: C-reactive protein in serum from infants as determined with immunodiffusion techniques. I. Healthy infants. Acta Paediatr. Scand. 59 (1970) 25-27

(20) Saxstad J., Nilsson L.-Å. & Hanson, L.-Å.: C-reactive protein in serum from infants as determined with immunodiffusion techniques. II. Infants with various infections. Acta Paediatr. Scand. 59 (1970) 676-680

(21) Tarukoski P.H.: Quantitative spectrophotometric determination of haptoglobin. Scand J. Clin. Lab. Invest. 18 (1966) 80-86

(22) Trowitzsch J., Bläker F. u. Schröter W.: Haptoglobin und Bilirubin im Serum Frühgeborener. Monatsschr. Kinderheilkd. 119 (1971) 27-31

Lebenslauf

Am 13. 12. 47 als zweites von vier Kindern geboren, lebte ich meine Kinder- und Jugendzeit bei meinen Eltern, dem Arzt Dr. Paul Raschke und seiner Frau Helene, geborene Brauns in Rott/Inn.

Von 1954 - 1958 besuchte ich in Rott/Inn die Volksschule, anschließend bis 1967 das humanistische Gymnasium in Rosenheim.

Nach dem Abitur studierte ich Theologie, zwei Semester in Freising und acht Semester in München; Abschluß mit dem Diplom in Theologie 1972. Das im selben Jahr begonnene Medizinstudium beendete ich im Mai 1979 mit Erfolg.